

[Login or Create Free Account](#)

Search

[Go to Advanced Search](#)[Home](#) | [Search Patents](#) | [Data Services](#) | [Help](#)

Title:

**BONE MATRIX SYNTHESIS PROMOTER**

Document Type and Number:

Japanese Patent JP07233083

Kind Code:

A

Link to this page:

<http://www.freepatentsonline.com/JP07233083.html>

Abstract:

**PURPOSE:** To obtain a bone matrix synthesis promoter contained a heat-shock protein, capable of specifically promoting synthesis of procollagen in osteoblast and useful for therapy of osteoporosis, etc.

**CONSTITUTION:** This bone matrix synthesis promoter contains a heat-shock protein (HSP), e.g. an HSP such as HSP 47 having a molecular weight of 50 K dalton. The preferable dosage form of this promoter is injection and preparation of this injection is carried out, e.g. by dissolving HSP 47 and mannitol in distilled water, sterilizing it according to the conventional method and subsequently freeze-drying it. This promoter is administrated in an amount of 0.01 to 3000mg/day per an adult, especially 0.1 to 500mg/day per an adult on HSP base.

**COPYRIGHT:** (C)1995,JPO



Inventors: YOSHIKUMI CHIKAO  
Application Number: JP1964000060497  
Filing Date: 02/23/1994  
Publication Date: 09/05/1995  
Referenced by: [View patents that cite this patent](#)  
Export Citation: [Click for automatic bibliography generation](#)  
Assignee: KUREHA CHEM IND CO LTD  
International Classes: (IPC1-7): A61K38/00; A61K38/00

**Free Patent Information**

We Help Inventors With Prototypes, Patents & Marketing. Free Info Kit!  
[www.inventionhome.com](http://www.inventionhome.com)

**Ideas To Reality**

Inventor Assistance for Patents, Prototypes, Marketing & Licensing  
[www.harshawresearch.com](http://www.harshawresearch.com)

**Collagen Injection**

Find Collagen Injection. Search In Your Local Area Now.  
[Justclicklocal.com](#)

Ads by Google

[<- Previous Patent \(ANTI-HYPERTENSIVE CO...\)](#) | [Next Patent \(ENHANCER FOR CHEMOTH...\)->](#)

Copyright 2004-2007 FreePatentsOnline.com. All rights reserved. [Contact us](#). [Privacy Policy](#) & [Terms of Use](#).

(19) 日本国特許庁 (J P)

## (12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平7-233083

(43) 公開日 平成7年(1995)9月5日

(51) Int. CL. <sup>6</sup>	識別記号	庁内整理番号	F 1	技術表示箇所
A 6 1 K 38/00	ADD A B J			
		A 6 1 K 37/ 02	ADD A B J	

審査請求 未請求 請求項の数 3 F D (全 6 頁)

(21) 出願番号	特願平6-49764	(71) 出願人	000001100 興羽化学工業株式会社 東京都中央区日本橋堀留町1丁目9番11号
(22) 出願日	平成6年(1994)2月23日	(72) 発明者	清輔 洋一 東京都新宿区百人町3-26-1-303
		(72) 発明者	白神 俊美 東京都小平市大沼町1-180-1-306
		(72) 発明者	森野 真嘉 東京都練馬区光が丘3-7-2-207
		(72) 発明者	吉汲 親雄 東京都国立市東2-19-46
		(74) 代理人	弁理士 森田 憲一

(54) 【発明の名称】 骨マトリックス合成促進剤

(57) 【要約】

【目的】 骨マトリックス合成促進剤を提供する。

【構成】 熱ショックタンパク質 (H S P) を含有する。

【効果】 骨粗鬆症などの骨疾患に罹患した骨芽細胞中にみられるコラーゲン合成減少を改善する作用を有するので、骨粗鬆症などの骨マトリックス産生の低下の病態を示す病気の患者の生理学的状態を有効に改善し、骨粗鬆症などの骨マトリックス産生の低下の病態を示す病気を効果的に治療することができる。

1

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 熱ショックタンパク質 (HSP) を含有することを特徴とする、骨マトリックス合成促進剤。

【請求項2】 熱ショックタンパク質 (HSP) が分子量50キログルトン以下の低分子HSPファミリーである、請求項1記載の骨マトリックス合成促進剤。

【請求項3】 熱ショックタンパク質 (HSP) がHSP47である、請求項1記載の骨マトリックス合成促進剤。

## 【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、熱ショックタンパク質 (heat shock protein; 略称はHSP) を有効成分として含有する骨マトリックス合成促進剤に関する。本発明による骨マトリックス合成促進剤によれば、特に骨芽細胞からのコラーゲンの合成を促進することにより、骨マトリックス産生の低下の病態を示す病、例えば骨粗鬆症の患者の生理学的状態を有効に改善し、骨粗鬆症などの骨マトリックス産生の低下の病態を示す病気を効果的に治療することができる。

【0002】

【従来の技術】 近年、細胞外マトリックス産生の低下の病態を示す病気が大きな問題となっている。ここで言う細胞外マトリックス産生の低下の病態を示す病気とは、例えば骨組織における骨粗鬆症を含む。骨組織は、生化学的には、有機成分であるマトリックスと、無機質 (ミネラル) であるカルシウムリンの骨塩 (大部分はハイドロキシアパタイト) とから構成されている。骨マトリックスの約90%はコラーゲンからなる。

【0003】 コラーゲンは生体の全タンパク質の約25~30%を占め、分子量約30万、長さ約280nm、直径約1.5nmのロープ状の分子であり、特殊な螺旋構造を有している。その構成アミノ酸は、約30%がグリシン、約20%がプロリン又はヒドロキシプロリンである。骨のコラーゲンは、大部分がI型コラーゲンで、骨組織の中で最も多いタンパク質である。

【0004】 骨組織は、一生を通じて絶えず改変 (リモデリング) を続け、骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨吸収により改変されている。骨形成の基本は、まず骨の細胞が出現し、次いで、コラーゲンなど、骨のマトリックス形成が起こり、最後にミネラルが沈着する、という順序で進行する。骨吸収過程はこの逆であり、その繰り返しがリモデリングである。骨形成過程において骨芽細胞はコラーゲンを主成分とするマトリックスを産生し、そのホールゾーンにおける石灰化が骨形成の中心的現象であると考えられている。そして骨芽細胞により産生されたコラーゲンは架橋結合が導入されることにより石灰化されたマトリックスとして機能的に完成する。

【0005】 コラーゲンは骨の形成に必須の役割を演じていることは、プロコラーゲン遺伝子の異常に基づくコ

2

ラーゲン合成の異常により生ずる骨形成不全症が存在し (Biochem. J., 229巻, 287頁, 1985年)、その骨はもうけて骨折を起こしやすいこと、また骨の形成に重要な働きをするホルモンであり、その欠乏が閉経後骨粗鬆症の主要な原因である、エストロゲンのリセプターが骨芽細胞に存在し、エストロゲンにより骨芽細胞の増殖やコラーゲン合成が促進されること (Ernst M, Schmid CH, Froesch ER: Proc. Natl. Acad. Sci. US A, 85巻: 2307-2310頁, 1988年)、などからも明らかである。

【0006】 加齢における骨組織の変化は、成長期、成熟期及び老齢期に大きく分けることができる。成熟期においても、破骨細胞群による骨吸収と骨芽細胞群による骨形成が絶えず繰り返され、その動的平衡の維持により骨量及び形態が保たれている。しかしながら、骨形成よりも骨吸収が上回る状態になると骨の量は減少する。閉経や老化とともに全身性にこのような状態になるのが進行期骨粗鬆症である。

【0007】 骨粗鬆症とは、全身又は局所での単位体積当たりの骨組織に占める骨量の低下として定義され、骨に穴がいつばいできて、その構造が粗くなり、脆くなった状態である。骨粗鬆症においては、骨のミネラルとマトリックスがともに量的に減少する。骨粗鬆症化状態は、老化に伴って程度の差こそあれ存在しているが、疼痛、変形又は骨折などが生じてきた際には、じめて病的状態として治療の対象となる。女性の場合は閉経後骨粗鬆症が、男性の場合は70歳以降に発症する老年性骨粗鬆症が問題となっている。

【0008】 その治療の目的は、第一に骨折発生の防止のための骨量維持あるいは増加をはかることであり、第二に腰痛部痛などの除痛である。現在、骨粗鬆症の治療又は予防の指針としては、大別して2つの方向性が考えられている。すなわち、骨吸収の抑制による骨量減少の防止、及び、骨形成の促進による骨量の増加である。骨吸収抑制剤としては、カルシウム製剤、エストロゲン、カルシトニン又はイブリファロンを挙げることができ、骨活性化又は骨形成促進剤としては活性型ビタミンD<sub>2</sub>を挙げることができる。しかしながら、骨吸収の抑制は、骨改変の抑制、すなわち、力学的負荷に対する骨の適応反応の抑制を伴うことが危惧され、骨折率を低下させることができるかどうかは疑問しい。一方、骨形成の促進による骨量増加はこの点でより望ましい治療方向と考えられるが、骨形成を促進する手段 (治療薬) は少ない。

【0009】 このように、骨粗鬆症の診断ならびにそれらに基づく治療は、徐々に改善されてはいるものの、いまだ根本的な治療法に到達していない。日本における進行期骨粗鬆症の患者数は、現在でも既に約500万人にのぼり、代謝性骨疾患のなかで最も多く見られる疾患であり、今後の高齢化社会の到来とともにさらにその発

3

頻度が増加すると予測される。骨粗鬆症はそれによってもたらされる骨の脆弱性により、わずかな外傷で脊椎圧迫骨折、大腿骨頸部骨折、桡骨遠位端骨折、上腕骨折、頸椎骨折をおこし、日常生活動作の障害や歩行能力の喪失をきたしやすくなる。特に大腿骨近位部骨折は寝たきり老人となる原因ともなり、生命予後に直接影響する。骨粗鬆症を原因として発症する大腿骨頸部骨折患者数は、全国で現在、年間4〜5万人発生していると考えられているが、老人の増加に伴い、今後30年間で患者数が3倍以上になるものと予想されている。従って、骨形成を促進する優れた新しい治療法の出現が望まれている。

【0010】

【発明が解決しようとする課題】上記したように、骨粗鬆症などでは骨形成の著しく減少した状態が主病変であり、骨形成においてはコラーゲン生成が必須の役割を演じている。そして、骨形成過程においてコラーゲンを主成分とするマトリックスを産生する中心的役割を担っているのは骨芽細胞である。従って、骨芽細胞におけるコラーゲンの生成を促進できれば骨マトリックスの形成が促進され、骨粗鬆症などの骨マトリックス産生の低下の病態を示す病気は改善されることになる。

【0011】本発明者は、意外にも、熱ショックタンパク質（HSP：ストレスタンパク質ともいう）が、骨芽細胞におけるプロコラーゲンの合成を特異的に促進することを見出した。本発明はこうした知見に基づくものであり、骨粗鬆症などの骨マトリックス産生の低下の病態を示す病気の患者の生理学的状態を有効に改善し、骨粗鬆症などの骨マトリックス産生の低下の病態を示す病気を効果的に治療することのできる骨マトリックス合成促進剤を提供することを目的とする。

【0012】

【課題を解決するための手段】すなわち、本発明は、熱ショックタンパク質（HSP）を含有することを特徴とする、骨マトリックス合成促進剤に関する。

【0013】以下、本発明について詳細に説明する。HSPは、高温条件又は他のストレスをかけたときに細胞から産生されるタンパク質群の総称である。本発明では、任意のHSPを用いることができるが、例えば、哺乳類（例えば、ヒト、ラット、マウスなど）由来のHSPが、免疫性の点で好ましい。また、分子量50キログルトン以下の低分子HSP、例えば、分子量5〜50キログルトンの低分子HSPを用いるのが好ましく、特にHSP47を用いるのが好ましい。HSP47は、永田などによって1986年に発見されたタンパク質であり、分子量47キログルトンの塩基性タンパク質（pI=9.0）である。なお、分子量が5〜50キログルトンの範囲内の低分子HSPは、調製法が容易なので好ましい。

【0014】本発明の骨マトリックス合成促進剤は、有

4

効成分としてのHSPの他に、製剤上許容することのできる担体、例えば賦形剤、結合剤、保存剤、安定化剤及び/又は香料などを含有させて、慣用の調製方法によって製剤化することができる。

【0015】本発明の骨マトリックス合成促進剤の投与方法は、経口及び非経口的のいずれの方法によってもよい。非経口投与方法としては、注射（皮下、静脈内など）、直腸投与などが例示される。これらのなかで、注射による投与が最も好適である。投与剤形は、当業界で公知の任意の剤形とすることができ、例えば経口投与用としては粉末、顆粒、錠剤又はカプセル剤などが、非経口投与用としては注射剤又は坐薬などがそれぞれ例示される。これらのなかで注射剤が最も好適に用いられる。前記の投与以外にも、骨芽細胞へHSP遺伝子を導入し、HSPの発現を促進させることによって、同様の効果を得ることができる。

【0016】例えば注射剤の調製においては、有効成分としてのHSPの他に、例えば生理食塩水、滅菌水リンゲル液などの水溶性溶剤、植物油、脂肪酸エステルなどの非水溶性溶剤、ブドウ糖、塩化ナトリウムなどの等張化剤、溶解補助剤、安定化剤、防腐剤、懸濁化剤、乳化剤などを任意に用いることができる。具体的に一例を示すと、HSP47（10mg）とマンニトール（50mg）とを蒸留水に溶解して10mlとし、常法で除菌した後、溶液2mlづつを注射用小瓶に分注し、又はそのまま凍結乾燥して注射剤とする。使用に際して、生理食塩水で希釈して注射液とすることができる。

【0017】本発明の骨マトリックス合成促進剤は、HSPを製剤中に一般に0.01〜90重量%、好ましくは0.1〜60重量%の割合で含有することができる。また、本発明の骨マトリックス合成促進剤の投与量は、患者の年齢、症状の程度などにより異なり、有効量である限り特に限定されないが、通常、成人につき1日当たり、HSP47量として、0.01〜3000mg、好ましくは0.1〜500mg程度である。そして、本発明の骨マトリックス合成促進剤は、1日数回、例えば1〜4回程度に分けて投与することができる。なお、HSP、特にHSP47に毒性は認められない。

【0018】

【作用】上記したように、HSP（特にHSP47）には、骨芽細胞のプロコラーゲン合成を特異的に促進する作用があるので、HSPを投与すると骨芽細胞でのコラーゲン合成が特異的に増加し、骨マトリックスの形成が促進される。その結果、骨形成も促進されることになる。従って、HSPは、コラーゲンの減少を伴う骨マトリックス産生低下の病態を示す病気、例えば骨粗鬆症などの予防及び治療に使用することができ、高度に成立した骨粗鬆症などの骨疾患も治療することができる。

【0019】

【実施例】以下、実施例によって本発明を具体的に説明

5

するが、これらは本発明の範囲を限定するものではない。骨芽細胞において、プロリンのタンパク質への取り込み活性が、コラーゲン合成に比例することが知られているので、以下の実施例においてタンパク質の合成は、プロリンの取り込み活性を測定することにより評価した。

#### 【0020】調製例1：HSP47の精製

1日齢のC57BLマウスを屠殺し、頭部と内臓を除去した後、0.25Mスクロース、5mM-EDTA、2mMフェニルメチルスルホニルフルオリド、2mM-N-エチルマレイミド (Sigma Chemical Co.)、1μg/mlロイペプチン (Boehringer Mannheim Biochemicals)、及び1μg/mlペプスタチンA (Boehringer Mannheim Biochemicals)を含む10mMトリス-HCl (pH7.5) 450ml中で、4℃にて3分間、最高速度でホモジナイザー (Polytron) でホモジナイズした。

【0021】続いて、以下の操作も全て4℃で行った。得られたホモジネートを遠心分離 (15分間；4200g) した。粗膜成分を得るために、上清溶液を超速心分離 (1時間；150000g) した。得られたペレットを、1%オクチルフェノキシポリエトキシエタノール (Nonidet P-40)、50mMトリス-HCl (pH8.0)、0.15M-NaClと5mM-EDTA、2mMフェニルメチルスルホニルフルオリド、2mM-N-エチルマレイミド、1μg/mlロイペプチン及び1μg/mlペプスタチンAを含む抽出バッファー125mlに再懸濁し、ホモジナイザー (Dounce) で処理し、得られたホモジネートを1時間、静かに攪拌した。抽出液を超速心分離 (1時間；150000g) し、膜抽出液として上清溶液を得た。

【0022】膜抽出液をgelatin-Sepharose 4B (Pharmacia Fine Chemicals) と30~40 (v/v) %懸濁液となるよう混合した。混合液を4℃で16時間、十分に攪拌した。その膜抽出液を含むgelatin-Sepharose懸濁液を2.5cm直径のカラムに詰め込み、1.0ベッド・ボリュームの、40mMオクチル-β-D-グルコピラノシド (Sigma Chemical Co.)、0.4M-NaCl、5mM-EDTA、2mMフェニルメチルスルホニルフルオリド、2mM-N-エチルマレイミド、1μg/mlロイペプチン及び1μg/mlペプスタチンAを含む50mMトリス-HCl (pH8.0) で洗浄した。HSP47は、gelatin-Sepharose 4Bカラムより、40mMオクチル-β-D-グルコピラノシド、0.15M-NaCl、5mM-EDTA、2mMフェニルメチルスルホニルフルオリド、1μg/mlロイペプチン及び1μg/mlペプスタチンAを含む50mMトリス-H

6

Clを用いて、pHを6.3に下げることにより溶出した。さらに、ブレイパライズSDS/PAGEにより精製した。47キロダルトンのバンドは染料 (Coomassie brilliant blue) で染色して切り取り、電気泳動で溶出し、0.1 (w/v) % SDSを含む蒸留水で透析した。

#### 【0023】調製例2

調製例1にて製造したHSP47を、以下のようにしてラット骨芽内腫由来骨芽細胞様細胞株UMR-106細胞へ細胞内導入し、UMR-106細胞内におけるコラーゲン産生量を測定した。

##### (1) UMR-106細胞の培養

UMR-106細胞 (大日本製薬) を75cm<sup>2</sup> フラスコに約1.0×10<sup>4</sup>/cm<sup>2</sup> の密度で播種した。UMR-106細胞を37℃でCO<sub>2</sub> インキュベーター中で、10%胎児血清 (FBS; Sera-Lab)、1.4.3mM-NaHCO<sub>3</sub>、1.2mMグルタミン (日本製薬)、100U/mlペニシリン (GIBCO) 及び0.1mg/mlストレプトマイシン (GIBCO) を含むダルベッコ変性イーグル (DME) とF-12の混合 (DME/F-12, 1:1) 培地で細胞を、コンフルエントになるまで培養した。その後、1.0%血清アルブミン (BSA; 生化学工業) を含む血清不含培地に交換して24時間培養し、細胞を収集した。

##### 【0024】(2) UMR-106細胞内へのHSP47の注入

赤血球ゴースト法による細胞融合にて、UMR-106細胞内へHSP47を注入した。すなわち、ヒト赤血球をK<sup>+</sup> 溶液 (160mM-KCl及び20mMトリシン-NaOHバッファー；pH7.4) で3回洗浄した。チクロームC (200μg)、HSP47 (0.5mg) 及び35% (v/v) 赤血球K<sup>+</sup> 溶液との混合液0.5mlを、4℃で1時間、40mM-KClと10mMトリシン-NaOHバッファー (pH7.4) との溶液250mlに対して透析した。2.2M-KClと20mM-MgCl<sub>2</sub> をを含む溶液を0.05倍当量加え、ゴースト懸濁液を37℃で30分間インキュベートした。この段階で、ゴーストを4℃で一晩、放置した。

【0025】HSP47内包赤血球ゴーストをK<sup>+</sup> 溶液で3回洗浄し、UMR-106細胞と融合した。すなわち、Na<sup>+</sup> 溶液 (160mM-NaCl及び20mMトリシン-NaOHバッファー；pH7.4) 6.0ml中のUMR-106細胞2×10<sup>4</sup> 個に、0.08mM-La (NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> をを加え、続いて1.5×10<sup>5</sup> 個のHSP47内包赤血球ゴーストを加えた。センザイウィルスは400HAU/mlの濃度まで加え、0℃で5分間静置し、続いて37℃で45分間、静かに旋遊しながらインキュベートした。細胞を培地と共に遠心 (5分間；150g) し、融合した細胞からゴーストを除去した。この融合細胞、ならびにコントロールとしてHSP

7

47を注入していないUMR-106細胞を用い、以下の薬理試験例にて、DNA合成量、コラーゲン合成量及び非コラーゲン性タンパク質合成量を測定した。

#### 【0026】薬理試験例

##### (1) DNA合成量の測定

DNA合成は $^3\text{H}$ チミジンの2時間取り込み量で測定した。1.0%BSAを含む血清不添加培地中で、 $^3\text{H}$ チミジン(1 $\mu\text{Ci}/\text{ml}$ )及び非標識のチミジン(5 $\mu\text{M}$ )を加え、融合細胞及びコントロール細胞をインキュベートした。2時間インキュベーションした後、培地を除去し、氷冷したリン緩衝生理食塩水(PBS)で3回細胞層を洗い、細胞を集めた。冷やしたトリクロロ酢酸でDNAを沈殿させた(最終濃度:10%)。そして、沈殿物を0.2N-NaOHで溶解し、放射能活性を測定した。

##### 【0027】(2) コラーゲン合成量、及び非コラーゲン性タンパク質合成量の測定

細胞を $^3\text{H}$ プロリン存在下で2時間培養し、タンパク質合成量を測定した。コラーゲンは、以下に述べるように、バクテリアコラゲナーゼ法により測定した。コラーゲン合成の割合(%)は、コラーゲンが他のタンパク質より5.4倍のイミノ酸を含むことによる補正を行った。1.0%BSA、80 $\mu\text{g}/\text{ml}$ - $\beta$ -アミノプロピオニトリル及び100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ アスコルビン酸を含む血清不添加培地中で、 $^3\text{H}$ プロリン及び非標識プロリンをそれぞれ最終濃度が3 $\mu\text{Ci}/\text{ml}$ 及び1 $\mu\text{M}$ となるように培地に加えて、融合細胞及びコントロール細胞を2時間インキュベーションした。その後、細胞及び培養液を氷で冷やしながら超音波処理した。超音波処理液に、10%トリクロロ酢酸を加えて沈殿させ、その沈殿物を3回、10%トリクロロ酢酸で洗\*

\*つた。

【0028】乾燥した沈殿物を0.1N-NaOHに2.5 $\text{mg}/\text{ml}$ となるように溶かし、時々振盪しながら37°Cで5分間、暖めた。0°Cに冷却した後、この基質溶液0.2 $\text{ml}$ を反応混合液(N-エチルマレイミド(1.25 $\mu\text{mol}$ )、CaCl<sub>2</sub>(0.25 $\mu\text{mol}$ )、及びセファデックスGカラムで精製したコラゲナーゼ(26 $\mu\text{g}$ )からなる)0.5 $\text{ml}$ と混合し、60 $\mu\text{mol}$ のヘベス(Hepes)バッファー(pH7.2)を加えた。過剰のNaOHを0.08N-HCl(0.2 $\text{ml}$ )で中和した。

【0029】37°Cで振盪しながら90分間、インキュベートした。反応は0.5%タンニン酸を含む10%トリクロロ酢酸0.5 $\text{ml}$ を加えることにより停止した。0°Cにて5分間静置し、4°Cで遠心分離(5分間;400g)した。上清をカウント用バイアルに移した。沈殿物を5%トリクロロ酢酸-0.25%タンニン酸0.5 $\text{ml}$ に懸濁し、遠心分離した。得られた上清を上記の上清と併せた。上清、及びバイアルに溶かした沈殿物を、それぞれコラゲナーゼにより分解されるタンパク質(CDP)すなわちコラーゲン、及びコラゲナーゼにより分解されないタンパク質(NCP)すなわち非コラーゲン性タンパク質として、放射能活性を測定した。放射能活性の測定は、試料を液体シンチレーション計数用試薬(AQUASOL-2;DuPont Cat.#NEF-952)5 $\text{ml}$ に溶かし、液体シンチレーションカウンタ(Beckman LS 3800)で計測した。結果を表1及び表2に示す。

#### 【0030】

【表1】

UMR-106細胞でのDNA合成活性に対するHSP47注入の影響

( $^3\text{H}$ )チミジン取り込み量

UMR-106細胞	(cpm/ $10^4$ cells)
正常対照細胞	61.0
HSP47注入細胞	57.9

※非コラーゲン性

#### 【0031】

【表2】UMR-106細胞でのコラーゲン合成活性・※

タンパク質合成活性に対するHSP47注入の影響

	CDP	NCP	コラーゲン合成
UMR-106細胞	(cpm/ $10^4$ cells)	(cpm/ $10^4$ cells)	%
正常対照細胞	4.23	19.2	3.92
HSP47注入細胞	9.52	18.9	8.53

【0032】表1及び表2から明らかなように、UMR-106細胞内へHSP47を注入したところ、DNA及び非コラーゲン性タンパク質のいずれもがコントロール細胞と比べてほとんどその含有量が変わらず、合成が促進されなかったにもかかわらず、コラーゲンについてはその含有量がコントロール細胞に比べて約2~3倍となった。これらの実験は、HSP47を骨芽細胞に注入

してやることによって得られた結果であるが、このことは骨芽細胞がHSP47によりコラーゲンの産生を高めることを証明するものであり、HSP47が骨マトリックス合成の促進に有効であることを示すものである。

#### 【0033】

【発明の効果】以上詳述したように、本発明によるHSPを有効成分として含有する骨マトリックス合成促進剤

は、骨粗鬆症などの骨疾患に罹患した骨芽細胞中にみられるコラーゲン合成減少を改善する作用を有する。従って、本発明による骨マトリックス合成促進剤を投与することにより骨粗鬆症などの骨マトリックス産生の低下の

病態を示す病気の患者の生理学的状態を有効に改善し、骨粗鬆症などの骨マトリックス産生の低下の病態を示す病気を効果的に治療することができる。